ATL母子感染における予防対策について (分担研究: HTLV-I抗体検索における偽陽性反応について)

一條元彦、安藤良弥

要約 HTLV-Iキャリアの検索方法として、おおくはHTLV-I抗原に対する抗体の有無によって行われているが、これらの抗体検出法では偽陽性反応を呈することは、方法によりその頻度に差異があろうとも、避け得ない問題である。このような偽陽性反応に係わる蛋白の分離並びにこの蛋白に対する抗体の作成を行った。

見出し語:HTLV-I、非特異反応、抗原蛋白、TCL-Kan

目的、研究方法 HTLV-I抗体の検出法には、抗原由来の異なる蛋白を用いたいくつかの方法が臨床的に用いられている。これらの方法においては、非特異反応が存在していることが知られており、陽性反応を呈した検体においても、抗体の特異性を調べる必要性も強調されている。 昨年の報告において、EIA 法の偽陽性率は0.03 4% PA法の偽陽性率は0.54%と報告した。またPA法の偽陽性反応が、我々が調べた妊婦検体においては、p24 IgM ととらえられる抗体によるものであることも報告した。

今回、TCL-Kan のDOC lysateを展開、wester

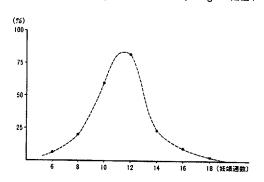
奈良県立医科大学産婦人科 (Dep. of Obstetrics and Gynecology. Nara Med. Univ.) n blot法により転写した抗原膜を用い、妊婦においてHTLV-I特異抗原とは異なると思われる蛋白と反応するp24 IgM 抗体の出現頻度を、妊娠週数毎に検討した。また、妊娠末期までこの抗体の存続を認めた妊婦においては、臍帯血においてHTLV-I特異抗体の有無を検索した。一方、HTLV-I抗原を採取するため、TCL-Kan 産生ウイルスを硫酸化セルロファインに吸着の後、NaCl グラディエントによりウイルスを回収し分離、精製した。このウイルス分画をDOC により可溶化し、透析の後ポリエチレングリコールにより、とDS-PA 促にて展開後western blot法によりニトロセルロース膜に転写、抗体検出用抗原とした。また、この膜に反応した非特異反応と考えられる分

子量の部分をポリアクリルアミドゲルより切り 出し、complete ajuvantとともにrabbitに免疫 し、抗体の産生を計った。

以上の方法で作成した抗体を用い、HTLV-I産生細胞株、MT-2・TCL-Kan との反応、MT-2・TC L-Kan 培養上清を上記の方法で展開したニトロセルロース膜と反応させ、作成した抗体の特異性について検討した。

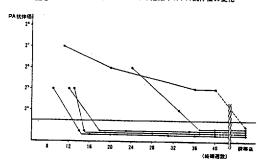
結果 妊婦において、無作為に抽出した各週数30例の検体がTCL-Kan producing virus lysate のp24 とIgM クラスの抗体で反応する割合は、図1に示すごとくに、妊娠11週前後に極値を示し80%で陽性と判定される結果であった。

図1 TCL-Kan producing virusによるWB. p24 IgMの陽性率



妊娠末期(分娩時)迄、このようなHTLV-Iとは関係しない非特異反応を示した検体は、我々が検討した妊婦約3500例中1例であったが、これらの妊娠時に非特異反応を凝集法で示した妊婦の臍帯血血清では、全例から特異的HTLV-I抗体は検出出来なかった(図2)。また、分娩時まで非特異反応を示した妊婦においても、分娩後1週間の後には凝集法の感度以下となった。

図2 PA(+), iF(-)症例における妊娠中のPA抗体価の変化



TCL-Kan 産生HTLV-Iウイルスの採取法を方法 に示したが、ウイルスを吸着した硫酸化セルロ ファインのNaCl濃度が1Mに達するまでには、抗 原活性を有する分画の全てが溶出した。濃縮液 を抗原液としたwestern blot法において、HTLV - Iキャリア妊婦血清と反応した結果、gag 蛋白 は採取できたが、env 蛋白は殆ど回収出来てい ないことが判明した。一方、非特異反応と思わ れるp24 IgM 抗体との反応は存続しており、HT LV-I特異的p24 IgG 抗体との反応部位との間に 僅かな差を認めた。こうことを利用して、rabb itから得た血清を抗体として、TCL-Kan ・MT-2 を酵素抗体法にて染色した結果、この抗体はTC L-Kan の細胞膜にのみ反応し、MT-2とは反応し ないことが判明した。また、それぞれの細胞株 の培養上清を抗原としたwestern blot法では、 ICL-Kan のみと反応し、その反応像よりp24 Ig M 抗体の反応するものと同一のものと反応して いることが示された。

考察: 凝集法(PA 法) に用いられている抗原産 生細胞TCL-Kan からはHTLV-I特異抗原とは異な る抗原蛋白が産生され、その蛋白と妊婦血清の 反応を妊娠週数ごとに検討した成績から、非特 異反応に係わるIgM 抗体は妊娠の経過により変動し、多くの妊婦では分娩時迄には消失することが知られた。また、その蛋白の分子量は約24000~25000でありHTLV-I特異抗原蛋白のp24とほぼ同じ場所に泳動されるものであることを証明した。この結果は、現在用いられている凝集法の非特異反応の機序を解明するもので、非特異反応の低減化に寄与するものと考える。

検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用 論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります `

要約 HTLV-1 キャリアの検索方法として、おおくは HTLV-1 抗原に対する抗体の有無によって行われているが、これらの抗体検出法では偽陽性反応を呈することは、方法によりその頻度に差異があろうとも、避け得ない問題である。このような偽陽性反応に係わる蛋白の分離並びにこの蛋白に対する抗体の作成を行った。